

A Sensitive and Reliable LC-MS/MS Method for the Determination of Ambroxol and its Application to a Pharmacokinetic Study in healthy Chinese Subjects

Yilin WANG^{1,2}, Yingying ZHAO^{1,2}, Yingxiang WU^{1,2} & Yan WANG^{1,2}*

¹ College of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, China

² Yunnan Key Laboratory of Screening and Research on Anti-pathogenic Plant Resources
from Western Yunnan (Cultivation), Dali 671000, China

SUMMARY. In the present study, a sensitive and reliable liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method was developed and validated for assessment of ambroxol pharmacokinetics in human plasma sample according to FDA guidelines. Ambroxol and propranolol (internal standard, IS) were extracted from plasma samples using liquid-liquid extraction (LLE) with ethyl acetate. Chromatographic separation was achieved on a Luna C₁₈ column (2.0 mm × 150 mm, 5 μm) using acetonitrile-0.1% formic acid water as the mobile phase at a flow rate of 0.6 mL/min under gradient elution procedure. Quantification was performed by using an electrospray ionization (ESI) source in the positive ion mode, and the multiple reaction monitoring (MRM) conversions of *m/z* 379.0→263.9 for ambroxol, and *m/z* 260.1→116.1 for IS were conducted. Correlation coefficients > 0.9966 were achieved for all the calibration curves with linear regression. The intra-day and inter-day precisions of ambroxol were 6.9-9.1% and 1.2-14.4%, respectively, while the corresponding accuracies were -2.4-2.8% with high extraction recovery and little matrix effect. The method developed in the current study was successfully applied to the evaluation of pharmacokinetic study of ambroxol in healthy Chinese volunteers after single oral administration of salbutamol/ambroxol fixed-dose combination granules (containing 15 mg ambroxol). Compared with the other literature available for human plasma, the current study possesses many advantages, *e.g.* high sensitivity (LLOQ of 0.100 ng/mL for ambroxol), low cost (small plasma volume of 100 μL), and a short chromatographic run time (4.0 min per sample).

RESUMEN. En el presente estudio, se desarrolló y validó un método de espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) de cromatografía líquida sensible y confiable para la evaluación de la farmacocinética de ambroxol en muestras de plasma humano de acuerdo con las pautas de la FDA. Ambroxol y propranolol (estándar interno, IS) se extrajeron de muestras de plasma mediante extracción líquido-líquido (LLE) con acetato de etilo. La separación cromatográfica se logró en una columna Luna C₁₈ (2,0 mm × 150 mm, 5 μm) utilizando acetonitrilo-agua con ácido fórmico al 0,1 % como fase móvil a un caudal de 0,6 ml/min con un procedimiento de elución en gradiente. La cuantificación se realizó mediante el uso de una fuente de ionización por electropulverización (ESI) en el modo de iones positivos, y se realizaron las conversiones de monitoreo de reacciones múltiples (MRM) de *m/z* 379,0→263,9 para ambroxol y *m/z* 260,1→116,1 para IS. Se lograron coeficientes de correlación > 0,9966 para todas las curvas de calibración con regresión lineal. Las precisiones intradiarias e interdiarias de ambroxol fueron 6,9-9,1% y 1,2-14,4%, respectivamente, mientras que las precisiones correspondientes fueron -2,4-2,8% con alta recuperación de extracción y poco efecto matriz. El método desarrollado en el estudio actual se aplicó con éxito a la evaluación del estudio farmacocinético de ambroxol en voluntarios chinos sanos después de la administración oral única de gránulos combinados de dosis fija de salbutamol/ambroxol (que contienen 15 mg de ambroxol). En comparación con otras publicaciones disponibles sobre plasma humano, el estudio actual posee muchas ventajas, *e.g.* alta sensibilidad (LLOQ de 0,100 ng/mL para ambroxol), bajo costo (pequeño volumen de plasma de 100 μL) y un tiempo de ejecución cromatográfico corto (4,0 min por muestra).

KEY WORDS: ambroxol, LC-MS/MS, pharmacokinetics

* Author to whom correspondence should be addressed. *E-mail:* jessica9428@sina.com